

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-249556

⑬ Int. Cl.⁵
A 61 L 27/00

識別記号 庁内整理番号
G 6971-4C
M 6971-4C

⑭ 公開 平成2年(1990)10月5日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全5頁)

⑮ 発明の名称 骨修復材および人工骨固定化剤

⑯ 特 願 平1-272729

⑰ 出 願 平1(1989)10月18日

優先権主張 ⑱ 昭63(1988)10月25日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 昭63-268874

㉑ 発 明 者	山 室	隆 夫	京都府向日市物集女北の口100-33
㉒ 発 明 者	中 村	孝 志	京都府京都市右京区西院春栄町36-7
㉓ 発 明 者	小 谷	晴 弥	京都府京都市左京区高野東開町1番地の23
㉔ 出 願 人	山 室	隆 夫	京都府向日市物集女北の口100-33
㉕ 代 理 人	弁理士	野河 信太郎	

明 細 書

1. 発明の名称

骨修復材および人工骨固定化剤

2. 特許請求の範囲

1. 動物の骨由来の骨形成促進物質を人工骨に付着または含有させてなる骨修復材。

2. 人工骨に単位体積当たり、0.1~1.5g/cm³の骨形成促進物質を付着してなる請求項1記載の骨修復材。

3. 動物の骨由来の骨形成促進物質を有効物質として含有してなる人工骨固定化剤。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

この発明は、骨修復材および人工骨固定化剤に関する。さらに詳しくは、人工骨と骨形成促進物質とを併用する骨修復材および骨形成促進物質を有効物質として含有してなる人工骨固定化剤に関する。

(ロ) 従来の技術

従来より生体における骨移植術としては患者自

身の骨を用いた自家骨移植が汎用されているが、この自家骨移植に用いる自家骨には量的限界があり、また骨の採取と移植の2回の手術を要するので、患者に苦痛を与える。

この自家骨移植の欠点を補うために、哺乳動物の骨から灰分を除去した有機基質の粉末(以下脱灰骨成分という)を生体に移植し、自家骨の形成を促させる試みがなされた(Glowacki等, Lancet May 12, 1959, 1981)。すなわち脱灰骨粉末中には放線菌の局所性骨修復調節因子が含まれており、脱灰骨粉末を生体に移植すると、生体反応により脱灰骨粉末を取り囲んで肉芽が形成されるが、それに従って脱灰骨粉末中に存在する化学走行性因子により、生体の間葉系細胞が脱灰骨粉末表面に引き寄せられ、脱灰骨粉末中の分化促進因子により軟骨細胞に分化する。さらに肉芽組織内に毛細血管が形成されると軟骨細胞は死滅し、この細胞から放出される因子及び脱灰骨粉末から放出される因子により、間葉系細胞は骨芽細胞に分化する。骨芽細胞は脱灰骨粉末を石灰化させる

とともに、その間隙にコラーゲンを分泌し、分泌されたコラーゲンにも石灰化を起こしてついには肉芽の内部に正常な骨が形成される。このようにして形成された骨は生体自体の正常骨として代謝回転する。

このような哺乳動物の脱灰骨粉末を用いることにより、骨欠損部補填時に自家骨を用いる際の欠点は解決されるが、これ自体では強度が無く、脱灰骨粉末を単独で用いる場合に、形成された骨が外力に耐え得る強度を得るには、1.5～2年の長期間を要する。また異種動物の骨を原料にする場合には、その抗原性により充分な骨が形成されないことがあるので、阻抽出を行い、抗原性をもつものを除去する(Sanpath等, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 84, 7109(1987))。

一方、骨の支持機構を代行させるために、金属、セラミックス等の人工骨が開発されているが、これらには自己修復機能は無い。

(ハ) 発明が解決しようとする課題

この発明は、自然骨の欠損部の修復を誘導しか

骨形成等の歯科・口腔外科領域に好適に使用できるものである。

この発明において、動物の骨由来の骨形成促進物質とは、容易に骨が入手し得る例えばウシ、ブタ、ウサギ等の哺乳動物を主とする脊椎動物の骨を原料として、無機成分(灰分)を除去した有機基質の粉末(以下脱灰骨粉末という)、および、この粉末を精製して得られる骨修復調節因子を含有する物質を意味する。具体的には、脱灰骨粉末は、下記文献：

Glovacki等, Lancet May 12, 959, 1981;

Glovacki等, Clinic in Plastic Surgery, 12, 233(1985);

Sanpath等, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 84, 7109(1987)

等により得られるものを意味し、骨修復調節因子を含有する物質は、下記文献：

Uriet等, Science, 220, 689(1982);

Sanpath等, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 84, 7109(1987);

つ自然骨と人工骨との結合を強固にしうる骨修復材および人工骨固定化剤を提供しようとするものである。

(ニ) 課題を解決するための手段

かくしてこの発明によれば、動物の骨由来の骨形成促進物質を人工骨に付着または含有させてなる骨修復材、および、動物の骨由来の骨形成促進物質を有効物質として含有してなる人工骨固定化剤が提供される。

この発明は、自己修復機能を有するが支持機能をもたない骨形成促進物質と、自己修復機能を有しないが支持機能をもつ人工骨とを併用して、生体の自然骨欠損部に補填することにより、補填部の周辺および間隙に生体自体の骨が形成され、上記人工骨が生体の骨と同一の機能および形態を有するようになる事実に基づくものである。

この発明の骨修復材は、骨腫瘍患肢温存療法、粉碎骨折、遅延骨折、側弯症、人工関節置換、骨変形、骨奇形等の骨治療等の外科・整形外科領域、並びに、歯槽膿漏等の治療における人工歯根、歯

Farley等, Biochemistry, 21, 3582(1982)

等により得られるものを意味する。なお、上記骨形成促進物質の原料となる哺乳動物の選択は、移植される宿主と同種生物となるようにすることが抗原抗体反応による拒否反応を回避する点で好ましい。但し宿主が人間の場合は、ウサギまたはウシことに新生仔牛の長骨骨幹部が好ましい。

上記脱灰骨粉末の調製方法の具体例としては、原料骨を切断、粉碎し、付着する軟組織を除去、水洗した後有機溶媒例えばエタノール及びエーテル等で反復洗滌し、脱水、脱脂する。得られた骨片をさらに粉碎し、適当な粒径の粉末を得る。骨粉末は塩酸又はエチレンジアミン4酢酸等で脱灰後水洗し、有機溶媒で反復洗滌した後乾燥して、脱灰骨粉末を得る等が挙げられる。原料骨が上記新生仔牛の場合、骨は牛を屠殺後直ちに採取、凍結保存し、骨幹部を切断、粗砕する。付着する軟組織を除去、水洗した後、エタノール及びエーテルで反復洗滌し、脱水、脱脂する。得られた骨片を冷却条件下に短時間で粉碎し、適当な粒径の粉

末を得る。骨粉末は塩酸で脱灰後水洗し、さらにエタノール及びエーテルで反復洗滌、乾燥する等が挙げられる。上記粉末は粒子径75~450 μ m程度に調製されることが好ましい。

また骨修復調節因子含有物質の調製方法の具体例としては、脱灰骨粉末を適当な濃度のグアニジン塩酸水溶液で抽出し、抽出液を1種類乃至2種類のゲル濾過を行って骨形成活性のある画分を得、これを凍結乾燥する等が挙げられる。

この発明に用いる人工骨には、公知の整形外科用生体材料、すなわち1)金属材料、2)セラミックス材料、3)高分子材料、4)蛋白材料またはこれらの複合材料が挙げられる。しかしながら、通常1)~3)が好ましい。

上記金属材料としては例えばチタン、ステンレス等が挙げられる。上記セラミックス材料としては例えばアルミナセラミック、単結晶アルミナセラミック、ジルコニアセラミック等のバイオイナート・セラミックスや、バイオガラス(Hench等、Blond, Master. Symp., 2, 117(1972))、

挙げられる。このポーラスに形成する方法には、公知の方法、例えば同質の材料よりなる顆粒を2層結合させて顆粒間に空隙を作る方法、連続した金属繊維を2層に不規則に結合させる方法等を用いることができる。

このような人工骨に対して、骨形成促進物質は、通常適当な分散剤、結合剤、希釈剤等(例えばコラーゲン、生理食塩水、クエン酸溶液、酢酸溶液、ハイドロキシアパタイト、フィブリンまたはこれら混合液等)に分散させ、これを人工骨に塗布または含浸し、乾燥させることによって付着または含有させることができる。この場合、有効成分である骨形成促進物質の上記有効量を人工骨に供給するに足る濃度で調製される。

上記付着または含有は、人工骨の、骨欠損部の生体組織に充分強固に固定されるに足る部位になされるのが好ましい。この部位の例として、移植において宿主の自然骨と接する部分等が挙げられる。また上記付着または含有において、前記骨形成促進物質は、宿主の骨欠損部に移植される人工

水酸アパタイト(齊木ら、セラミックス, 10, 489(1975))、AW-ガラス(Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., 50, 260(1982))等のバイオアクティブ・セラミックスが挙げられる。上記高分子材料としては例えばポリメチルメタクリレート(PMMA)、高密度ポリエチレン(HDP)、シリコンラバー等が好適なものとして挙げられる。上記蛋白材料としては例えばコラーゲン、フィブリン等が挙げられる。上記材料は、骨修復を意図する欠損部に適応する形状に成形されて用いられる。

この発明において、上記人工骨には前記骨形成促進物質が、付着または含有される。この付着または含有は、該人工骨が意図する骨欠損部に補填(移植)された際、その場において、骨形成促進物質に含有される骨修復調節因子が、欠損部の生体組織に放出されうようになされる。例えば人工骨は、上記のごとき付着または含有に適した表面性状・表面構造を有するのが好ましい。この構成例として例えば、表面をポーラスにすることが

骨を、その欠損部に充分強固に固定するに足る有効量で用いられる。この有効量としては例えば、上記付着または含有される部位の単位面積当たり、0.1~1.5g/cm²、好ましくは0.3~0.5g/cm²程度である。

この発明による人工骨固定化剤は、骨形成促進物質を有効物質とし、生理的に受容な分散剤、結合剤または希釈剤中に含有させて調製される。これらの調製は、それ自体公知の方法で行うことができる。また人工骨固定化剤は、骨再生に有効な他の成分(例えばカルシウム)を添加してもよい。この発明の人工骨固定化剤は、これを人工骨に付着または含有させることなく、宿主の骨欠損部に移植される人工骨とその骨欠損部との間に充填するよう利用することもできる。この場合も上記のごとき有効量で用いられる。

(ホ) 作用

この発明によれば、宿主の骨欠損部に人工骨を、骨形成促進物質を併用して移植することにより、欠損部は人工骨により強度が充分に付与されると

共に、この人工骨は骨形成促進物質の自己修復機能により移植部の生体組織と強固に接合されることとなる。

以下実施例によりこの発明を詳細に説明するが、これによりこの発明は限定されるものではない。

(へ) 実施例

(実施例1)

ガラスセラミックおよび脱灰骨粉末を家兎の脛骨内に埋入し、ガラスセラミック周辺に形成される骨を観べた。

ガラスセラミックは小久保らの方法(Kokubo, T. 等: Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ. 58: 280, 1982)によって調製したA-Wガラスセラミックを用いた。即ち、酸化マグネシウム

(MgO) 4.8%、酸化カルシウム44.9%、二酸化ケイ素(SiO_2) 34.2%、五酸化リン(P_2O_5) 16.3%およびフッ化カルシウム(CaF_2) 0.5%からなるガラスセラミックを温度勾配をつけた方法で合成し、これを細粉化した上で縦15mm、横10mm、厚さ2mmの板に成型し、再び焼成した。

エタノール浸漬後乾燥した脱灰骨粉末を展着させ、これを脛骨の貫通小孔内に刺入し、付加的な小孔より、脱灰骨粉末を間隙部に充填した後皮膚を縫合した。

移植1, 2, 3および4週後に移植部脛骨を摘出し、150mm厚さの横切硬組織標本作製し、ギムザ表面染色を施して、顕微鏡観察をするとともに軟X線によるコンタクトマイクロラジオグラフを作成した。それらの所見では、移植1週後にはA-Wガラスセラミック周囲の脱灰骨粉末間に多数の軟骨細胞が集積し、2週後には軟骨細胞と骨化部分が入りまじっていた。3週後になると骨化がさらに進み、これは脛骨の外側にまで起こっていた。この時期では、展着した脱灰骨粉末はまばらに残存しているのみであり、軟骨細胞もほぼ完全に消失していた。4週後になると、骨化はほぼ完成し、脱灰骨粉末は全く残存していなかった。

移植2~25週後に移植部脛骨を摘出し、A-Wガラスセラミックと、その周囲に形成された新生骨との結合の強さの力学的評価を行った。即ち、刺入したセラミック部分の上下2mmずつを切断除

脱灰骨粉末はグロワッキらの方法(Glowacki, J. 等: Clinics in Plastic Surgery 12: 233, 1985)によって調製した。即ち、家兎の長骨骨幹部を切断、粗砕し、付着する軟組織および骨髓を除去した後、冷却脱イオン水で反復洗滌し、さらにエタノール及びジエチルエーテルで反復洗滌した。この骨粗砕片を、冷却、インパクトミルで粉砕した後篩にかけ、粒子径75~450 μm の骨粉末を得た。骨粉末は、0.5モル塩酸に3時間浸漬して脱灰した後、脱イオン水、エタノール、ジエチルエーテルで反復洗滌し、凍結乾燥して、脱灰骨粉末を得た。

骨移植手術は次のようにして行った。体重約3kgの成熟雄性白色家兎をネンプター静脈内投与により全身麻酔し、両側脛骨近位端附近を0.5%キシロカインで局所麻酔し、骨を露出させ、縦16mm、横3mmの貫通小孔を作り、さらに縦の中央部付近に接して、付加的な小孔を作った。A-Wガラスセラミック表面に生理食塩水で湿らせた冷却エチレンオキシサイドガス滅菌またはアルコールエ

タノールで洗った。また両側部の骨も切断除去し、A-Wガラスセラミック板の前後にのみ骨がついた状態にした。これを用いて中村(Nakamura, T. 等: J. Biomed. Mater. Res., 19, 685-693(1985))の方法による引き剥しテストを行った。

表1

移植後 の週数	A-Wガラスセラミックのみ		脱灰骨粉末展着A-Wガラスセラミック	
	n	引き剥し要力	n	引き剥し要力
2週	3 ^{a)}	0.98 \pm 0.67kg	6 ^{b)}	2.58 \pm 0.84kg ^{***}
4週	6	2.86 \pm 1.11kg	7	7.21 \pm 0.73kg ^{***}
8週	8	7.43 \pm 1.03kg	8	9.00 \pm 1.33kg ^{***}
12週	7	8.19 \pm 1.18kg	8	9.92 \pm 1.11kg ^{***}
25週	8	7.14 \pm 2.28kg	8	11.91 \pm 2.76kg ^{***}
正常骨	8	11.96 \pm 2.23kg		

a) 6例中3例の平均、他の3例は結合せず測定不能。

b) 7例中6例の平均、他の1例は結合せず測定不能。

平均値の有意差 *: $P<0.01$, **: $P<0.005$, ***: $P<0.001$ (t検定)。

n: 使用動物数

その成績は表1に示すごとく、脱灰骨粉末を展着しないものに比較して、脱灰骨粉末を展着したものでは、A-Wガラスセラミックと新生骨は極

めて強固に結合していた。

(ト) 発明の効果

この発明によれば、自然骨との接統部分を天然に近い状態で強固に接統できかつ支持強度の強い骨修復材を提供することができる。

代理人 弁理士 野 河 信太郎

